



Schema diagnosticului bacteriologic, virusologic, parazitologic

	bacteriologic	virusologic	parazitologic
METODE DIRECTE			
1 Examen direct	Examenul direct al produsului patologic	Examenul direct al produsului patologic	Examen coproparazitologic
	<ul style="list-style-type: none"> • examen macroscopic 	<ul style="list-style-type: none"> • - 	<ul style="list-style-type: none"> • examen macroscopic
	<ul style="list-style-type: none"> • examen microscopic - microscopie optică <ul style="list-style-type: none"> ○ preparat nativ ○ colorație negativă ○ colorație simplă ○ colorații compuse 	<ul style="list-style-type: none"> • examen microscopic <ul style="list-style-type: none"> ○ evidențierea incluziilor virale – microscopie optică ○ <u>microscopie electronică</u> 	<ul style="list-style-type: none"> • examen microscopic <ul style="list-style-type: none"> ○ metode directe <ul style="list-style-type: none"> ▪ preparat nativ, în ser fiziologic ▪ preparat nativ în soluție lugol ▪ frotiu colorat ○ metode de examinare în strat gros ○ metode de concentrare ○ metode larvoscopice ○ amprenta anală
	<ul style="list-style-type: none"> • evidențierea antigenelor bacteriene prin metode serologice 	<ul style="list-style-type: none"> • reacții antigen-anticorp (evidențierea antigenului) 	
	<ul style="list-style-type: none"> • detectarea ADN-ului microbial (reacții de hibridizare, amplificare genică – PCR) 	<ul style="list-style-type: none"> • detectarea ADN-ului - reacții de hibridizare, amplificare genică (PCR) 	<ul style="list-style-type: none"> • detectarea ADN-ului - reacții de hibridizare, amplificare genică (PCR)



<p>2 Cultivare</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Izolarea germenului în cultură pură <ul style="list-style-type: none"> ○ însămânțarea și cultivarea pe medii de cultură ○ inoculare la animale de laborator ○ - 	<ul style="list-style-type: none"> • Cultivarea virusurilor <ul style="list-style-type: none"> ○ culturi celulare, linii celulare ○ animale de laborator ○ oul de găină embrionat 	<ul style="list-style-type: none"> • Cultivarea paraziților <ul style="list-style-type: none"> ○ însămânțarea se face pentru paraziții unicelulari pe medii încălzite la 37°C, 1 sau mai multe zile ○ animale de laborator ○ -
<p>3 Identificare</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Identificarea germenului izolat din cultură pură <ul style="list-style-type: none"> ○ cercetarea caracterelor de cultură și morfotinctoriale ○ cercetarea caracterelor biochimice și de metabolism ○ determinarea structurii antigenice prin: <ul style="list-style-type: none"> ▪ reacții de aglutinare ▪ reacții de precipitare ▪ reacții de umflare a capsulei ○ determinarea sensibilității germenului la antibiotice și chimioterapice (anti biograma) ○ determinarea sensibilității la bacteriofagi (lizotipia) ○ tehnici de detectare a ADN microbial 	<ul style="list-style-type: none"> • Identificarea virusului izolat <ul style="list-style-type: none"> ○ examen microscopic ○ prin modificările caracteristice apărute pe culturile celulare, OGE, animale de experiență ○ reacții antigen-anticorp ○ detectare a ADN –ului - reacții de hibridizare, amplificare genică (PCR) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ reacții antigen-anticorp ○ tehnici de detectare a ADN



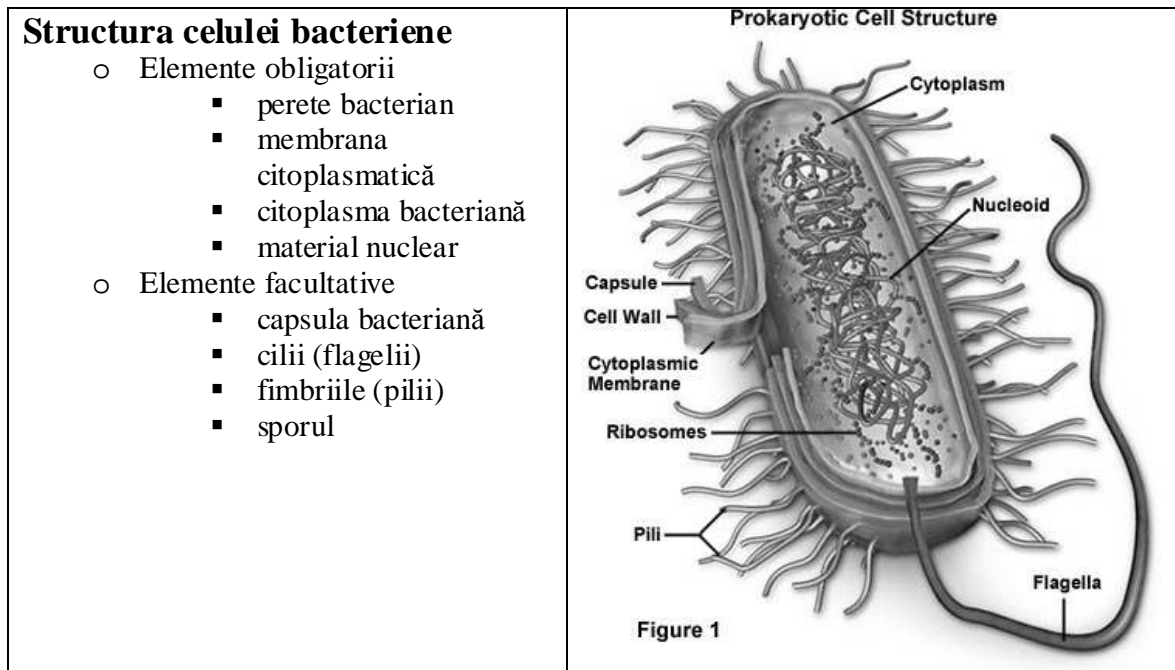
	<ul style="list-style-type: none"> • Determinarea patogenității germeului izolat prin: <ul style="list-style-type: none"> ○ teste in vitro ○ teste in vivo (boala experimentală) 		
METODE INDIRECTE			
Diagnostic serologic	<ul style="list-style-type: none"> • detectarea anticorpilor din serul bolnavilor (anticorpii se urmăresc în dinamică) 	<ul style="list-style-type: none"> • detectarea anticorpilor din serul bolnavilor <ul style="list-style-type: none"> ○ Seroconversia: creșterea titrului de anticorpi în probele de ser recoltate la interval de 10-14 zile ○ (demonstrarea unei infecții recente, actuale) 	<ul style="list-style-type: none"> • detectarea anticorpilor din serul bolnavilor <ul style="list-style-type: none"> ○ anticorpii se urmăresc în dinamică • reacții biologice cutanate de diagnostic (IDR) - rar



Morfologia microorganismelor

Morfologia celulei bacteriene

- Poate fi observată la microscopie optică
- Organisme procariote
 - nu au membrană nucleară proprie
 - prezintă un singur cromozom
- forma bacteriilor
 - controlată genetic
 - important criteriu taxonomic
 - forma sferică (coci)
 - forma cilindrică (bacilli)
 - forma spiralată (încurbată)
- dimensiunile bacteriilor 0,5 –20 μm





Morfologia virală

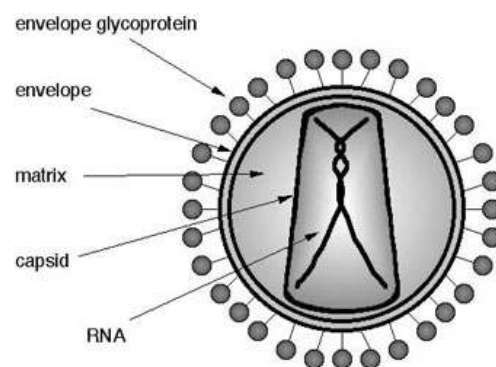
- Virion = virus
 - unitatea virală, morfofuncțională, completă, intactă, infecțioasă, cu diametrul cuprins între, capabil să infecteze bacterii, plante, animale, omul
- Dimensiuni extrem de mici 18-400 nm
 - Se evidențiază la microscopul electronic
- Se multiplică doar în interiorul unei celule vii

• Morfologia virusurilor

- sferic
- cilindric, bastonaș
- paralelipiped
- cartuș
- filamentos
- sferic cu coadă

• Structura virusurilor

- genom viral - ARN/ADN
- capsida
- înveliș viral - peplos
-



Morfologia parazită

- **Parazitul:** ființă de natură vegetală sau animală care trăiește pe suprafața sau în interiorul unei alte ființe,
- **Organismul gazdă:** acea ființă de natură vegetală, animală sau **umană** pe seama căruia se dezvoltă parazitul.

Omul poate fi:

- gazdă definitivă când parazitul își atinge maturitatea sexuală în acesta
- gazdă intermediară, când parazitul se găsește doar trecător, într-un anumit stadiu evolutiv în el, și nu își atinge maturitatea sexuală în acesta

Cele peste 160 de specii de paraziți se organizează în 3 Încrângături.

- **Protozoa:**
 - cuprinde paraziții unicelulari
- **Helminthes:** viermii paraziți
 - plathelminthes: viermii plați, teniile
 - dimensiuni cuprinse între 1 cm – 10-12 m
 - nemathelminthes: viermii cilindrici
 - dimensiuni cuprinse între 1 mm – 15 cm
- **Arthropoda:** insectele parazite



Morfologia fungilor

- ciuperci, fungi, micete
 - vegetale inferioare
 - saprofite/parazite
 - lipsite de clorofilă
 - se hrănesc heterotrof
 - se înmulțesc prin spori sexuați sau asexuați
 - prezintă:
 - o parte vegetativă – thal (thallos = ramură)
 - celula
 - globuloasă, ovalară sau alungită de 3-5 μ izolate sau alăturate
 - filamentoase, cu filamente lungi, de ordinul milimetrilor
 - parte reproducătoare reprezentată de
 - spori
 - aparatul sporifer (sămânța)

Examenul microscopic

Preparatul nativ (umed, între lamă și lamelă)

Permite studierea:

- mobilității germenilor
- morfologiei bacteriene

Tehnica de lucru: se realizează o suspensie de germeni vii între lamă și lamelă

Examinarea se face cu:

- microscopul optic, cu obiective uscate, condensator coborât.
- microscopul cu fond întunecat
- microscop cu contrast de fază

Preparate colorate

Permit studierea:

- morfologia germenilor
- dispoziția germenilor
- afinitatea tinctorială (colorabilitatea)

Etapele realizării frotiurilor:

- etalarea – întinderea pp. pe lamă (să nu atingă marginile)
- uscarea la temperatura camerei
- fixarea (la flacără sau chimică) – se denaturează proteinele bacteriene -> moartea microbilor; asigură adeziunea preparatului de lamă.



Colorații:

1. colorații simple

- se folosește un singur colorant (1-2 min), înlăturarea colorantului în exces, spălare, uscare, examinare la microscop cu obiectiv de imersie.

2. colorații compuse:

a. Colorația Gram

Diferențiază bacteriile Gram pozitive de cele negative

Etape	Gram +	Gram -
colorare cu violet de gențiana 2 min.	Violet	V
mordantare (lugol) 2 min.	V	V
spălare cu apă de robinet	V	V
decolorare cu alcool 96°	V	
spălare cu apă de robinet	V	
recolorare fuxină 2 min.	V	Roșu
spălare cu apă de robinet	V	R
uscare	V	R

b. colorația Ziehl-Neelsen

Se utilizează pentru evidențierea germenilor acido-alcoolo-rezistenți

Rezultatul colorației: pe fondul albastru al frotiului se observă bacili acido-alcoolo-rezistenți.